

**DERWENT- 1990-121054**  
**ACC-NO:**

**DERWENT- 199721**  
**WEEK:**

**COPYRIGHT 2006 DERWENT INFORMATION LTD**

**TITLE:** Galacto-oligosaccharide prodn. - by allowing microbe of Rhodotorula, sterigmatomyces or sirobasidium to act on lactose to generate galacto-oligo-saccharide and extracting it

**INVENTOR: OONISHI, N; YOKOZEKI, K**

**PATENT-ASSIGNEE: AJINOMOTO KK[AJIN]**

**PRIORITY-DATA: 1988JP-0118160 (May 17, 1988) , 1988JP-0324855 (December 22, 1988)**

**PATENT-FAMILY:**

<b>PUB-NO</b>	<b>PUB-DATE</b>	<b>LANGUAGE</b>	<b>PAGES</b>	<b>MAIN-IPC</b>
JP 02072890 A	March 13, 1990	N/A	000	N/A
JP 2600874 B2	April 16, 1997	N/A	003	C12P 019/00

**APPLICATION-DATA:**

<b>PUB-NO</b>	<b>APPL-DESCRIPTOR</b>	<b>APPL-NO</b>	<b>APPL-DATE</b>
JP 02072890A	N/A	1988JP-0324855	December 22, 1988
JP 2600874B2	N/A	1988JP-0324855	December 22, 1988
JP 2600874B2	Previous Publ.	JP 2072890	N/A

**INT-CL (IPC): C12P019/00, C12R001/64 , C12P019/00 , C12R001:645**

**RELATED-ACC-NO: 1990-182388**

**ABSTRACTED-PUB-NO: JP 02072890A**

**BASIC-ABSTRACT:**

**Prod. of galactooligosaccharide comprises (1) allowing microbe belonging to Rhodotorula, Sterigmatomyces or Sirobasidium, having ability to generate galactooligosaccharide of formula Gal-(Gal)<sub>n</sub>-Glc (I) from lactose, to act on lactose to generate galactooligosaccharide and (2) extracting it. In (I), Gal = galactose residue, Glc = glucose residue, n = 1-3.**

**Microbe used is e.g. Rhodotorula minuta IFO 879, Sterigmatomyces elviae FERM-10001 or Sirobasidium magnum CBS 6803. It is cultured in medium contg. carbohydrate such as glucose or sucrose, alcohol such as ethanol or glycerol, organic acid such as acetic acid or propionic acid, carbon source such as soybean oil, nitrogen-contg. nutriment such as yeast extract, peptone or ammonium sulphate, inorganic nutriment such as phosphate, Mg or Fe, vitamin such as biotin or thiamine, at pH 4.0-9.5 for 12-60 hrs. at 20-40 deg.C.**

**USE/ADVANTAGE - Galactooligosaccharide is produced efficiently by the method. Oligosaccharide contg. galactose residue is propagation factor of Bifidobacterium.**

**ABSTRACTED-PUB-NO: US 5149640A**

#### **EQUIVALENT-ABSTRACTS:**

**A new method to prod. a galactose transfer prod. comprises reacting a microorganism strain of g.Sterigmatomyces, Sirobasidium or Rhodotorula, which is able to prod. a galactose transfer prod. of formula (Gal)<sub>n</sub>-R, where Gal is galactose residue, n is 1-4 and R is sugar or galactose receptor, or a combination of lactose and galactose receptor at 20-70(25-65)deg.C., pH 2-10(3-7) for 2 hrs. to 10 days, and collecting the galactose transfer prod. The amt. galactose receptor is 0.1-50%wt., and of lactose is 0.5-70%.wt. A pref. microorganism is Sterigmatomyces elviae FERM-BP-2586, FEMR-P-10001, and galactose transfer prod. is of formula (Gal)-Lac. USE/ADVANTAGE - The prod. is obtd. in high yield at a high rate of accumulation and is used as a proliferating factor for Bifidobacteria, and to transfer galactose to sugar alcohols nucleosides, alcohols, etc. for applications to drugs. etc.**

**CHOSEN- Dwg.0/0 Dwg.0/0  
DRAWING:**

**TITLE-TERMS: GALACTO OLIGOSACCHARIDE PRODUCE ALLOW MICROBE RHODOTORULA  
ACT LACTOSE GENERATE GALACTO OLIGO SACCHARIDE EXTRACT**

**DERWENT-CLASS: D16 D17**

**CPI-CODES: D05-C08; D06-H;**

**SECONDARY-ACC-NO:**

**CPI Secondary Accession Numbers: C1990-053447**

## ⑫ 公開特許公報(A) 平2-72890

⑤ Int.Cl.<sup>5</sup>

識別記号

庁内整理番号

④ 公開 平成2年(1990)3月13日

C 12 P 19/00  
 //(C 12 P 19/00  
 C 12 R 1:645)

8214-4B

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全3頁)

⑥ 発明の名称 ガラクトオリゴ糖の製造方法

⑪ 特 願 昭63-324855

⑫ 出 願 昭63(1988)12月22日

優先権主張 ⑬ 昭63(1988)5月17日 ⑭ 日本(JP) ⑮ 特願 昭63-118160

⑯ 発 明 者 大 西 幾 正 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社中央研究所内

⑰ 発 明 者 横 関 健 三 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社中央研究所内

⑱ 出 願 人 味の素株式会社 東京都中央区京橋1丁目5番8号

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

ガラクトオリゴ糖の製造方法

## 2. 特許請求の範囲

乳糖または乳糖含有物から一般式  $\text{Gal}-(\text{Gal})_n-\text{Glc}$  (但し式中  $\text{Gal}$  はガラクトース残基、 $\text{Glc}$  はグルコース残基、 $n$  は1~3の整数をそれぞれ表わす) で示されるガラクトオリゴ糖を生成する能力を有するロドトルラ属、又はステリグマトマイセス属又はシロバシディウム属に属する微生物を乳糖または乳糖含有物に作用せしめ生成するガラクトオリゴ糖を採取することを特徴とするガラクトオリゴ糖の製造方法。

## 3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は乳糖または乳糖含有物から一般式  $\text{Gal}-(\text{Gal})_n-\text{Glc}$  (但し、式中  $\text{Gal}$  はガラクトース残基、 $\text{Glc}$  はグルコース残基、 $n$  は1~3の整数をそれぞれ表わす) で示されるガラクトオリゴ糖を生成する能力を有するロドトルラ属又は

ステリグマトマイセス属又はシロバシディウス属に属する微生物を乳糖または乳糖含有物に作用せしめ生成するガラクトオリゴ糖を採取することを特徴とするガラクトオリゴ糖の製造方法に関する。

近年、ガラクトース残基を含むオリゴ糖がビフィズス増殖因子として注目されている。

(従来技術と問題点)

ガラクトオリゴ糖の製造方法は酵素法としてアスペルギウス・オリゼエの  $\beta$ -ガラクトシダーゼを用いる方法(特公昭58-20266、特開昭58-99497)が知られているが、ガラクトオリゴ糖の生成収率が低く実用性に乏しい、また、ガラクトオリゴ糖を乳糖を原料としてクリプトコッカスローレンティを培養し、培養液中に蓄積させる方法(特開昭60-251896)が知られているが、原料である乳糖の仕込濃度が低く高濃度にガラクトオリゴ糖を蓄積することができない。

(問題を解決するための手段)

本発明者らは上述の事情に鑑み乳糖または乳糖含有物からガラクトオリゴ糖を高蓄積・高収率で

生成する微生物を検索した結果、ロドトルラ属又はステリグマトマイセス属又はシロバシディウム属に属する微生物が、乳糖または乳糖含有物からきわめて高蓄積、高収率でガラクトオリゴ糖を生産することを見だし、本発明を完成するに至った。

本発明において使用される微生物は具体的にはロドトルラ・ミヌタ (*Rhodotorula minuta*) IF0 879、ステリグマトマイセス・エリビアエ (*Sterigmatomyces elviae*) FERMP-10001 がシロバシディウム・マグナム (*Sirobasidium magnum*) CBS 6803がある。

これらの微生物の培養には、通常これらの微生物が資化する栄養源であれば何でも使用しうる。例えばグルコース、シュクロース等の炭水化物、エタノール、グリセロール等のアルコール、酢酸、プロピオン酸等の有機酸；大豆油等の炭素源またはこれらの混合物、酵母エキス、ペプトン、肉エキス、コーンステープリカー、硫酸、アンモニア等の含窒素無機有機栄養源；リン酸塩、マ

グネシウム、鉄、マンガン、カリ等の無機栄養源；およびビオチン、チアミン等のビタミン類を適宜配合した通常の培地が用いられる。培養の方法としては栄養培地のpHを4.0～9.5の範囲で好氣的に20～40℃の範囲で12時間～5日間培養する。

ガラクトオリゴ糖を生成させる方法としては培養初期あるいは培養途中に、乳糖または脱脂乳等の乳糖含有物を培地に添加し培養しながら行なってもよいし、静止菌体を用いても良い。

静止菌体を用いる方法としては、培養液をそのまま用いる方法、遠心分離等により菌体を分離しこれをリン酸緩衝液等に再懸濁したものに、乳糖または乳糖含有物を添加し反応させる方法等がある。また菌体は生菌体のままでもよいしアセトン処理凍結乾燥等の処理をほどこしたものでよい。またこれらの菌体を担体に固定化して用いることもできる。

なお、乳糖または乳糖含有物からガラクトオリゴ糖を生成させる反応において、乳糖または乳糖

含有物の使用量は特に制限されないが、乳糖として1～70%重量%の範囲、好ましくは2.5～50重量%である。反応は通常20～70℃、好ましくは25～65℃の温度でpH2～10、好ましくは3～7の範囲で2時間～10日間行なう。

反応が終了した反応液は必要に応じて菌体を分離後イオン交換樹脂、ゲル濾過、活性炭吸着などのクロマトグラフィー等にかけることによりガラクトオリゴ糖を精製できる。

以下、本発明を具体的に実施例にて説明するが、本発明はこれら実施例のみに限定されるものではない。実施例における乳糖及びガラクトオリゴ糖の定量は高速液体クロマトグラフィー（ポンプは日立製作所製655型、検出器は昭和電工SE-51カラムはShodex-S801、溶媒は水）を用いピーク面積より求めた。

#### 実施例1

ラクトース（乳糖）10.0 g/dℓ、グリセロール2.0 g/dℓ、酵母エキス0.05 g/dℓ、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5 g/dℓ、 $\text{K}_2\text{HPO}_4$

0.3 g/dℓ、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1 g/dℓ、 $\text{H}_2\text{SO}_4$  7H<sub>2</sub>O 0.05 g/dℓを含む培地（pH7.0）を500 ml容フラスコに50 ml入れ115℃15分間殺菌した。

これにマルツエキス寒天培地で25℃2日間培養した。ロドトルラ・ミヌタIF0 879、ステリグマトマイセス・エリビアエFERMP-10001 シロバシディウム・マグナムCBS 6803をそれぞれ一白金耳接種し30℃にて4日間振とう培養した。得られた培養液の上澄中の生成ガラクトオリゴ糖の量を表1に示した。

## 実施例 2

ラクトース 1.0 g/dℓ, グリセロール  
2.0 g/dℓ, 酵母エキス 1.0 g/dℓ, ポリベ  
プトン 1.0 g/dℓ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5 g/dℓ,  
 $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.3 g/dℓ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1 g/dℓ,  
 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05 g/dℓを含む培地  
(pH 7.0) を 500 ml 容フラスコに 50 ml 入  
れ 115℃ 15 分間殺菌した。

これにマルツエキス寒天培地で 2 日間培養した  
ロドトルラ・ミヌタ IFO 879, ステリグマトマイセス・  
エリビア FERMP-10001 シロバシディウム・マグナ  
ム CBS 6803 をそれぞれ一白金耳接種し 30℃ で 2  
日間振とう培養した。培養終了後遠心分離により  
菌体を集め培養液と同量の生理食塩水で一回洗浄  
し菌体を集めた。

この菌体を 22 g/dℓ の乳糖液 (50 mM リ  
ン酸緩衝液中 pH 7.0) 50 ml に懸濁し 50℃ で  
2 日間反応させた。反応液の糖組成を表-2 にし  
めした。

特許出願人 味の素株式会社

表-1

	残存乳糖	生成ガラクトトオリゴ糖	
		3 糖	4 糖以上
ロドトルラ・ミヌタ IFO 879	0.8 g/dℓ	4.2 g/dℓ	2.6 g/dℓ
ステリグマトマイセス・エリビア FERMP-10001	2.1 g/dℓ	6.7 g/dℓ	0 g/dℓ
シロバシディウム・マグナム CBS 6803	1.8 g/dℓ	5.2 g/dℓ	1.9 g/dℓ

表-2

	残存乳糖	生成ガラクトトオリゴ糖	
		3 糖	4 糖以上
ロドトルラ・ミヌタ IFO 879	9.6 g/dℓ	8.4 g/dℓ	1.7 g/dℓ
ステリグマトマイセス・エリビア FERMP-10001	10.5 g/dℓ	9.3 g/dℓ	0 g/dℓ
シロバシディウム・マグナム CBS 6803	11.2 g/dℓ	8.0 g/dℓ	0.6 g/dℓ